

Diss. A 131

20/a. filr. péld.



A NÖVÉNYI DIASZTÁZ ZYMOCÉNJE.  
A PHOSPHATIDÁK HATÁSA A NÖVÉNYI  
DIASZTÁZRA.

Bölcsészdoktori értekezés

Írta:

KEREKES LAJOS.



Author:	Ua	73
Location:		
Series:		

-1-

Az enzimek olyan katalizátorok, amelyek az élő szervezetben keletkeznek, keletkezésük mibenlétéről nincsenek pozitív ismereteink. Vannak ugyan olyan kísérleti tapasztalatok, amelyek amellett látszanak szólalni, hogy bizonyos behatásokra a közelebbről nem ismert hatástalan profermentumokból vagy zimogénekből aktív enzimek keletkezhetnek, kérdés azonban, hogy valamilyen behatás eredményeképpen észlelt enzimás hatás tényleg arra vezethető-e vissza, hogy a zimogénből bizonyos kémiai reakcióval aktív enzim keletkezik. Elképzeltető az is, hogy a behatás folytán észlelt enzim működés nem enzim keletkezésére, hanem az enzim működését akadályozó anyagok hatástalanná tételére, avagy a közeg H-ion koncentrációjának az enzimre nézve előnyös módon való megváltozására vezethető vissza. Így pl. a pepsin zimogénje, a pepszimogén hatástalan, sav behatására azonban aktív pepszin keletkezik belőle alkálival szemben a pepszimogén kevésbé érzékeny mint a pepszin s viszont ismeretes, hogy a pepszin

csakis bizonyos H-ion koncentráció jelenlétében fejtheti ki hatását. <sup>1/</sup> Az enzím hatása növekedése minden különösebb behatás nélkül, az enzimet tartalmazó vizes oldat egyszerű gátlása közben is bekövetkezhet. Így pl. J. Baranetzky <sup>2/</sup> azt tapasztalta, hogy a burgonya kipréselt nedvének a diasztatikus hatása az eltartás ideje alatt erősödik, hasonló tapasztalatra vezettek Doby és Bodnár <sup>3/</sup> vizsgálatai is. Baranetzky <sup>4/</sup>, Detmer, Eisenberg <sup>5/</sup>, legújabban W. Bidermann <sup>6/</sup> vizsgálatai azt bizonyítják, hogy az eltartás ideje alatt csakis levegő jelenlétében észlelhető a diasztáz hatás növekedése, tehát oxigén jelenléte szükséges a diasztáznak zimogénjéből való felszabadításuk azt tapasztalták, hogy légmentes térben /vakuumban/ pl.

- 1/ J. Baranetzky, Die stärke umbildenden Fermente in den Pflanzen 1878. pag. 57. Leipzig.
- 2/ C. Doby und J. Bodnár. Biochem. Zeitschr. 68, 191, 1915.
- 3/ Baranetzky, loc. cit.
- 4/ Detmer, Just Jahresber. 1, 74, 1886.
- 5/ Eisenberg, Flora, 97, 347, 1907. de l'Acad. des
- 6/ W. Biedermann, Biochem. Zeitschr. 129, 582, 1922.



sához.

Magának a kész diasztáznak működésére a levegő  
 oxigénje nincs hatással, olyan diasztáz oldat, amelynek  
 felét elbirja cukrosítani, a keményítő eltűnése csakis  
 aktivitása levegő jelenlétében nem mutat növekedést, va-  
 gyis nem tartalmaz zimogént, levegőben ugyanolyan erős-  
 séggel cukrosítja a keményítőt, mint hidrogénben vagy  
 vakuumban. Ezen körülmény arra enged következtetni, hogy  
 találtam, hogy már a nyúzó borsó mag is tartalmaz anny-  
 az oxigén hatására történő aktiválás a diasztáz mennyi-  
 ségének a szaporodására vezethető vissza.

E. Godlewski és F. Polsenius a borsó magvak anaerob  
 lélegzésére vonatkozó klasszikus vizsgálatai alapján  
 arra az eredményre jutottak "das die Enzyymbildung bei  
 Annak megvizsgálására, hogy a növényi diasztázol-  
 den höheren Pflanzen ohne Sauerstoffzutritt möglich ist."  
 Ők azt tapasztalták, hogy légmentes térben /vakuumban/ pl.  
 49 napon át lélegző borsó mag eredeti keményítő tartal-  
 mának több mint a fele eltűnik s miután feltételezték,  
 "Diastase absolut" és borsódiastázzal.

1/E. Godlewski und F. Polsenius, Bull. de l'Acad. des  
 sciences de Cracovie pag. 227. 1901.  
 0,025%-os oldatot készítettem. Ezen oldatok diasztatikus



hatását mindjárt az oldat elkészítése után /0 óráig kísér-  
 letek/ majd levegő és szoba hőfokon tartva jelenlétében  
 aktiv diasztáz, amely a keményítő tartalomnak több mint a  
 való 24, 48 és 72 órai állás után a Wohlgemuth-féle  
 felét elbirja cukrosítani, a keményítő eltűnése csakis  
 módszerrel határozható meg. A kísérletek közlelbi adatai-  
 úgy magyarázható "dass die Diastase aufheben vollkommenen  
 ról az I-VIII. táblázatok nyújtanak felvilágosítást. Az  
 Luftabschluss in den Pflanzen sich bilden und ihre Wir-  
 I-IV. táblázatok adatai maltinra az V-VIII. táblázatoké  
 kung auf die Stärke ausüben kann." Ezzel szemben azt  
 pedig absolut diasztázra vonatkoznak.  
 találtam, hogy már a nyugvó borsó mag is tartalmaz any-  
 nyi diasztázt, amely képes jelentékeny mennyiségű kemé-  
 nyítőt elcukrosítani s így nem szükséges<sup>a</sup> kérdés magyará-  
 zatára feltételezni, hogy a zimogénből való diasztáz ke-  
 letkezése<sup>hez</sup> nem szükséges levegő jelenléte.

Annak megvizsgálására, hogy a növényi diasztázol-  
 dat aktivitása aseptikus körülmények mellett való eltár-  
 tás ideje alatt milyen mértékben növekszik, kísérleteket  
 végeztem két Merck-féle készítménnyel "Diastase Maltin",  
 "Diastase absolut" és borsódiastázzal.

A maltinból 0,25%-os, absolut diastázból pedig  
 0,025%-os oldatot készítettem. Ezen oldatok diasztatikus  
 1/ Wohlgemuth J. Grundriss der Fermentmethoden pag. 39,  
 1913. Berlin.

hatását mindjárt az oldat elkészítése után /0 órás kísér-  
letek/ majd levegőn és szoba hőfokon toluol jelenlétében  
való 24, 48 és 72 órai állás után a Wohlgemuth-féle  
módszerrel határoztam meg. A kísérletek közlebbi adatai-  
ról az I-VIII. táblázatok nyujtanak felvilágosítást. Az  
I-IV. táblázatok adatai maltinra az V-VIII. táblázatoké  
pedig absolut diasztázra vonatkoznak.

I. táblázat.

Hőfok: 18°. kísérleti idő: 24 óra.

Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Víz cm <sup>3</sup>	1%-os keményi tőoldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
--------------------------------------	------------------------	---	------------	------------

1	0.0	0.6	5	kék	Diasztáz- oldat
2	0.1	0.5	5	kék	0 órás
3	0.2	0.4	5	ibolya	
4	0.3	0.3	5	vörös ibo- lya	/limes/
5	0.4	0.2	5	barnásvörös	
6	0.5	0.1	5	kék sárga	D <sub>24</sub> <sup>18°</sup> = 12.5
7	0.6	0.0	5	sárga	



IV. II. táblázat

Hőfok: 18<sup>0</sup> Kisérleti idő: 24 óra

Sor szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Viz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő ol- dat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.0	0.6	5	kék	Diasztázol- dat 24 órás
2	0.1	0.5	5	ibolya	
3	0.2	0.4	5	vörösibolya	/limes/
4	0.3	0.3	5	barnásvörös	
5	0.4	0.2	5	sárga	
6	0.5	0.1	5	sárga	
7	0.6	0.0	5	sárga	

18° = 16.6  
D<sub>24h</sub> = 41.6

V. táblázat

III. táblázat

Hőfok: 18<sup>0</sup> Kisérleti idő: 24 óra

Sor- szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Viz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő ol- dat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	0.30	5	kék	Diasztázol- dat 48 órás
2	0.05	0.25	5	kék	
3	0.10	0.20	5	ibolya	
4	0.15	0.15	5	vörösibolya	/limes/
5	0.20	0.10	5	sárgásvörös	
6	0.25	0.05	5	sárga	
7	0.30	0.00	5	sárga	

18° = 25.0  
D<sub>24h</sub> = 22.2

IV. táblázat

Hőfok: 18<sup>0</sup> Kisérleti idő: 24 óra

Sor- szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Viz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő oldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	0.20	5	kék	Diasztázol- dat 72 órás
2	0.06	0.14	5	ibolya	
3	0.08	0.12	5	ibolya	
4	0.10	0.10	5	vörösibolya	/limes/
5	0.12	0.08	5	barnászvörös	
6	0.14	0.06	5	sárga	
7	0.16	0.04	5	sárga	D <sup>18°</sup> <sub>24h</sub> = 41.6

V. táblázat

Hőfok: 38<sup>0</sup> Kisérleti idő: 30 óra

Sor- szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Viz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő oldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	1.00	10	kék	Diasztázol- dat 0 órás
2	0.20	0.80	10	kék	
3	0.25	0.75	10	kék	
4	0.30	0.70	10	ibolya	
5	0.35	0.65	10	ibolya	/limes/
6	0.40	0.60	10	vörösibolya	/limes/
7	0.45	0.55	10	sárga	D <sup>38°</sup> <sub>30h</sub> = 22.2



VIII. táblázat

Hőfok: 38° Kísérleti idő: 30 óra

Hőfok: 38° Kísérleti idő: 30 óra

Sor- szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Víz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő oldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	0.40	10	kék	Diasztázol- dat 24 órás
2	0.10	0.30	10	kék	
23	0.105	0.30	10	kéklya	
34	0.150	0.25	10	kéklya	
45	0.205	0.20	10	ibolya	
56	0.250	0.15	10	ibolya	
67	0.305	0.10	10	ibolya	
7	0.35	0.05	10	vörösisbolya	/limes/ D <sub>30°</sub> = 25.0
8	0.40	0.00	10	sárga	

VII. táblázat

Hőfok: 38° Kísérleti idő: 30 óra

Sor- szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Víz cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő oldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	0.40	10	kék	Diasztázol- dat 48 órás
2	0.10	0.30	10	kék	
3	0.15	0.25	10	kék	
4	0.20	0.20	10	ibolya	
5	0.25	0.15	10	vörösisbolya	/limes/
6	0.30	0.10	10	sárga	
7	0.35	0.05	10	sárga	
8	0.40	0.00	10		D <sub>38°</sub> 30 <sup>h</sup> = 28.5

# VIII. táblázat

Hőfok: 38° Kísérleti idő: 30 óra

Sor szám	Diasztáz oldat cm <sup>3</sup>	Viza cm <sup>3</sup>	1%-os ke- ményítő oldat cm <sup>3</sup>	Jódreakció	Megjegyzés
1	0.00	0.40	10	kék	Diasztázol- dat 72 órás
2	0.10	0.30	10	kék	
3	0.15	0.25	10	ibolya	
4	0.20	0.20	10	ibolya	
5	0.25	0.15	10	vörösbolya	
6	0.30	0.10	10	barnászörös	
7	0.35	0.05	10	sárga	$D_{38} = 33.3$

E kísérletsorozatokat megismétlése hasonló eredmé-  
nyekre vezetett.

Könnebb áttekinthetőség kedvéért az eredményeket  
megfelelően csoportosítva:

Diasztázoldat	0.25%-os	0.025%-os
eltartási ideje	Distase Maltin	Distase absolut
órákban	$D_{34}^{18}$	$D_{30}^{38}$

0	12.5	22.2
24	16.6	25.0
48	25.0	28.5
72	41.6	33.3



Ezen adatok amellett szólnak, hogy a mindakét-féle növényi eredetű /árpából/ diasztáz vizes oldatának a ható képessége levegőn való állás alatt jelentékenyen megnövekszik. A maltinoldat diasztatikus hatása 72 órai eltartás alatt 232%-al az abszolút diasztázé pedig 50%-al emelkedett.

A borsódiasztázzal végzett kísérletekhez jó csirázó Viktória borsómagból őrléssel és szitálással nyert lisztfinomságú anyagot használtam s úgy jártam el, hogy a borsólisztet levegőtől elzárva s levegő jelenlétében autolízisnek vetettem alá s bizonyos idő eltelte után a Bertrand-féle módszerrel meghatároztam a keletkezett cukor mennyiséget.

Légmentes sorozat:

hanom 50 cm<sup>3</sup>-es jól üvegdugós üvegecskébe belemérttem 1-1 g borsólisztet, 1-1 cm<sup>3</sup> toluolt, kifőzött vízzel színültig töltöttem az üvegeket bedugaszoltam, ügyelve arra, hogy légbuborék ne maradjon vissza, légmentesen le parafinoztam, ide-oda mozgatással a borsólisztet eloszlattam

## IX. táblázat

a folyadékokban s az üvegeket szobahőfokon viz alá merített  
tem.

Idő Levegős sorozat Légmentes sorozat  
Levegős sorozat:

100 cm<sup>3</sup>-es Erlenmeyer lombikokba belemértem 1-1 g

borsólisztet, 1-1 cm<sup>3</sup> toluolt 50-50 cm<sup>3</sup> vizet s lazán be-  
dugaszolva szobahőfokon barytam állani.

A kísérleti idő leteltével egy-egy üvegecskét fel-  
bontottam, gyorsan átöntöttem egy 100 cm<sup>3</sup>-es Erlenmeyer

lombikba, hozzá adtam egy-egy késhegynyi konyhasót, egy-  
egy cm<sup>3</sup> 60%-os ecetsavat letaráltam, forró vízfürdőbe ál-

litottam  $\frac{1}{4}$  órára, koagulálás után lehűtöttem, pótoltam  
az elpárolgó vizet s száraz redős szűrőn leszűrtem. A

szűrlet 10-10 cm<sup>3</sup>-ének a redukáló képességét Bertrand  
szerint meghatároztam s az eredményeket nem cukorban,

hanem a vele arányos fémrészben fejeztem ki. A IX-ik olyan  
táblázatban feltüntetett adatok egymás között jól meggye-

ző párhuzamos kísérlet sorozatokkal végzett meghatározá-  
sok középértékei.

sok keresztelvitelét illetőleg a következőket kívánom



## IX. táblázat

megjegyezni. A 10 cm<sup>3</sup> borsóliszt extraktal redukált 40

Idő órákban	Levegős sorozat Cu mg	Légmentes sorozat Cu mg
0	1.1	1.1
24	61.4	48.9
48	101.5	85.7
72	138.6	118.7

Ezen adatokból világosan kitűnik, hogy a borsóliszt diasztatikus hatása a levegős sorozatban erősebb, mint a légmentesben, a két sorozat azonos tagjai közötti differencia /mg Cu-ban kifejezve/ megközelítőleg állandó érték: 12.6, 15.3, 13.0, amiből egy bizonyos mennyiségű zimogénnek aktiv enzimmé való átalakulására lehet következtetni, tehát a borsólisztben a diasztáz egyrésze olyan zimogén alakjában van jelen, amelyből a levegő oxipénjének a hatására aktiv diasztáz szabadul fel.

A borsóliszttel végzett Bertrand-féle meghatározások keresztvitelét illetőleg a következőket kívánom

toluoltól mentes volt és párhuzamosan vizsgáltam a két-  
megjegyezni. A 10 cm<sup>3</sup> borsóliszt extraktal redukált 40  
cm<sup>3</sup> Fehling-oldatot 25-25 cm<sup>3</sup>-ének a redukáló képességét.  
cm Fehling-oldatot aszbeszten keresztül /vakuumban/ igen  
nehezen szűrődött, könnyen ment a szűrés ha a redukált  
Fehling-oldatot megelőzőleg körülbelül 300 cm<sup>3</sup> forró  
vízzel felhígítottam.

Kísérleteimben toluol-t használtam dezinficiensnek.  
1/ A.Baudrexel szerint nemcsak a kloroform, hanem a toluol  
is redukálja a Fehling-oldatot, e szerint toluolt hasz-  
nálva diasztázos kísérletekhez a toluol redukáló képessé-  
ge hibaforrásnak lehet az okozója. Miután Baudrexel as-  
toluolnak ezen tulajdonságáról nem közöl kísérleti ada-  
tokat, néhány meghatározással igyekeztem e felől pontos  
tájékoztatást szerezni.

250 cm<sup>3</sup> 0.1%-os máltózoldatot két felé osztottam,  
az egyikhez feleslegben adtam toluolt a másik részlet

---

1/ A.Baudrexel, Zeitschrift für Spiritus Industrie XXXIII.  
No. 16-17.

nek igen fontos szerepük van az életfolyamatokban,



toluoltól mentes volt s párhuzamosan vizsgáltam a két-  
féle máltózoldat 25-25 cm<sup>3</sup>-ének a redukáló képességét.

Toluol nélkül a sejteket Toluollal plazmahártya  
semipermeabilis tulajdonsága a hártya foszfatida tar-

50.5	összefüggésben--	50.1	beható kísérle-
49.8		49.8	
49.5	adata megvizsgálni,	49.3	foszfatidák

Középértékben  
49.9 49.7

Ezen adatok bizonyítják, hogy a toluol nem hat re-

dukálólag a Fehling oldatra, tehát nyugodtan használ-  
hattam diasztázvizsgálataimnál a toluolt desinfi-  
ciens-  
nek.

a kérdéssel is foglalkozni, hogy létezik-e valamilyes  
szerves kapcsolat a phosphatidák és az enzimek között,

Minden sejt protoplazmája tartalmaz olyan kolloi-  
dális zsírszerű anyagokat, amelyekben foszfor és nitrogén

mutatható ki konstitutív plazma alkatrészek szerepeinek

Ezek a vegyületek phospholipoidok vagy phosphatidák  
név alatt ismeretesek. Az bizonyos, hogy phosphatidák-  
nak igen fontos szerepük van az életfolyamatokban,



funkciójuk megmagyarázásának több hipotézist állítottak fel, ezek közül legnevezetesebb az Overton-féle/elektroaktívátorok hatottak az enzimekre. Így pl. Kuttner mélet-amely szerint a sejteket körülvevő plazmahártya tapasztalta, hogy a lecithin ebben az esetben aktivásemmpipermeabilis tulajdonsága a hártya foszfatida tartalmával van összefüggésben-- további beható kísérleteknek a feladata megvizsgálni, hogy a foszfatidák anyagokat a lecithin paralizálja. Ugyancsak Kuttner funkcióját magyarázó hipotézisek mennyiben felelnek meg a valóságnak s hogy ezáltal tiszta képet alkothassunk a foszfatidák élettani rendeltetéséről.

A foszfatidák biokémiai szerepének a felderítését célzó vizsgálatoknak feladata többek között azzal a kéréssel is foglalkozni, hogy létezik-e valamilyes kapcsolat a foszfatidák és az enzimek között, mennyiben vannak a foszfatidák befolyással az enzimek működésére.

Ebben az irányban ezideig végzett vizsgálatok a diastasztázra s azt tapasztalta, hogy az élesztő korántsem nyújtanak egységes képet a foszfatidáknak az enzimek működésére gyakorolt befolyásáról. A phos-  
 2/1. Bang, Chemie und Biochemie der Lipide pag. 99. 1911.  
 3/ E. Centanni, Biochem. Zeitschr. 20, 389. 1910.

lipoidja kivételével aktiválták a májdiasztáz s a phosphatidák bizonyos esetekben stimulálólólag, tehát mint józsárga lipoidja hatott a legerősebben. Éterrel <sup>1/</sup> extraháló aktivátorok hatottak az enzimekre. Így pl. Küttner extrahált máj elveszti diasztáz <sup>nek</sup> hatását az éteres extrakt tapasztalta, hogy a lecithin ebben az esetben aktiváló hozzáadásával azonban visszanyeri aktivitását. Hasonló hatása nagy valószínűséggel arra vezethető vissza, hogy anélkül az alkohollal extrahált máj is, tehát a hogy a pepszin mellett jelenlevő s reál károsan ható májdiasztáz csakis lipoidok jelenlétében működhetik. Az anyagokat a lecithin paralizálja. Ugyancsak Küttner éteres extrakt hatása nem vezethető vissza anorganikus tapasztalta, hogy a lecithin bizonyos nagyobb mennyiségekre, mert az extrakt dialízis után is megtartja reaktivitását <sup>2/</sup> s elegendő már károsan hat a pepszinre. Pribram és Pietz vizsgálatai szerint a serum antitriptikus hatását H. Lapidus azt találta, hogy nyál- és pankreasdiazázra a lecithin paralizálólólag hat. A gyomornedv diasztázra a lecithin paralizálólólag hat. A gyomornedv diasztázra Többen tették vizsgálat tárgyává a phosphatidaktant metilalkoholos lecithinoldat aktiválja, vizsgálatnak illetve lipoidoknak befolyását a diasztáz működésére lecithin oldat ellenben paralizálja s az aktiválást a metilalkoholnak tulajdonítja. A serum diasztázikus hatását E. Centanni, tojássárgából, gyomorból és sörélesztőből éterrel való extrahálás csökkenti, lecithin hozzáadására azonban reaktiválódik.

a májdiasztázra s azt tapasztalta, hogy az élesztő J. Bang lipoidok hatását vizsgálva a diasztázra

1/Küttner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 476, 1906/1907.

2/J. Bang, Chemie und Biochemie der Lipide pag. 99. 1911.

3/E. Centanni, Biochem. Zeitschr. 29, 389. 1910.



lipoidja kivételével aktiválták a májdiasztázt s a to-  
arra az eredményre jut, hogy lecithin csökkenti a diasz-  
táz sárga lipoidja hatott a legerősebben. Éterrel extra-  
tázhatást, alkoholos valamint éteres extraktok a ptyalin  
hált máj elveszti diasztatikus hatását az éteres extrakt  
ra nézve indifferensek.

hozzáadásával azonban visszanyeri aktivitását. Hasonló-  
E. Starkenstein vizsgálatai szerint alkohollal ki-  
an viselkedik az alkohollal extrahált máj is, tehát a  
csapott diasztázból készített extrakt hatásosabb mint  
májdiasztáz csakis lipoidok jelenlétében működhetik. Az  
az előállításához használt eredeti májplazma. Kutyamáj  
éteres extrakt hatása nem vezethető vissza anorganikus  
diasztatikus hatását toluollal, éterrel, alkohollal va-  
sókra, mert az extrakt dialízis után is megtartja reak-  
ló extrahálás nem csökkenti, dialízissel inaktívált ku-  
tíváló tulajdonságát.

tyamájdiasztáz 1/2 sárgaextrakt hatására nem reaktívá-  
H. Lapidus azt találta, hogy nyál-és pankreasdiasz-  
tázra a lecithin paralizálólag hat. A gyomornedv diasz-  
tázára nincs befolyással. Mindezek alapján Starkenstein  
tázt metilalkoholos lecithinoldat aktiválja, vizes le-  
arra a végeredményre jut, hogy a diasztázhatás független  
cithin oldat ellenben paralizálja s az aktiválást a me-  
a lipoidoktól s a Centanni által észlelt aktiváló hatás  
tilalkoholnak tulajdonítja. A serum diasztatikus ha-  
nem lipoidokra, hanem az éteres extraktok sótartalmára  
tását éterrel való extrahálás csökkenti, lecithin hoz-  
vezethető vissza.

záadására azonban reaktíválódik.

2/

J. Bang lipoidok hatását vizsgálva a diasztázra

E. Starkenstein, Biochem. Zeitschr. 24, 191, 1910,  
33, 423, 1911.

1/ H. Lapidus, Biochem. Zeitschr. 30, 39, 1911.

2/ J. Bang, Biochem. Zeitschr. 32, 417, 1911.



arra az eredményre jut, hogy lecithin csökkenti a diasztázhatást, D. Minami részletesen vizsgálta lecithinnek /Hantzhatást, alkoholos valamint éteres extraktok a ptyalin detslecithin/ és lipoidoknak a hatását nyál-, pankreasra nézve indifferensek.

és serumdiasztázra. 3/ lecithin még ilyen kis mennyiségben E. Starkenstein vizsgálatai szerint alkohollal kis csökkentette a nyál- és pankreasdiasztáz hatását, csapott diasztázból készített extrakt hatásosabb mint a serumdiasztázét. 4/ májból készített éteres, az előállításhoz használt eredeti májplazma. Kutyamáj petroléteres és benzolos extrakt a nyáldiasztázt bizodiasztatikus hatását toluollal, éterrel, alkohollal vagyos körülmények mellett aktiválta. Éterrel extraháltó extrahálás nem csökkenti, dializissel inaktívált kúserum diasztatikus hatásának csökkenése nem a lipoidok tyamájdiasztáz, tojássárgaextrakt hatására nem reaktiválta. eltávolításával van összefüggésben --amint azt Lapides lódi éteres extraktió az emberi nyál diasztatikus hamagyarázta-- hanem magának az éternek a paralizáló hatására nincs befolyással. Mindezek alapján Starkenstein hatására vezetendő vissza, a serumban visszamaradt éterrel arra a végeredményre jut, hogy a diasztázhatás független levegő árammal való eltávolítása után a serumdiasztáz a lipoidoktól s a Centanni által észlelt aktiváló hatás visszanyeri eredeti aktivitását tehát a diasztázhatás nem lipoidokra, hanem az éteres extraktok sótartalmára kifejtéséhez nem szükséges lipoidok jelenléte. Tojássárgából nyert alkoholos és éteres extrakt a nyáldiasztáz

3/

1/ E. Starkenstein, Biochem. Zeitschr. 24, 191, 1910,  
D. Minami, Biochem. 33, 423, 1911, 255, 1912.

2/ Starkenstein, Biochem. Zeitschr. 21, 198, 1911.  
 3/ Starkenstein und L. Rosenberg, Biochem. Zeitschr. 23, 481, 1911.

1/  
D. Minami részletesen vizsgálta lecithinnek /Handelslecithin/ és lipoidoknak a hatását nyál-, pankreas- és serumdiasztázra. A lecitin még igen kis mennyiségben is csökkentette a nyál- és pankreasdiasztáz hatását, emelte a serumdiasztázét. A májból készített éteres, sárga petroléteres és bensólos extrakt a nyáldiasztázt bizonyos körülmények mellett aktiválta. Éterrel extrahált serum diasztatikus hatásának csökkenése nem a lipoidok eltávolításával van összefüggésben -- amint azt Lapidus magyarázta -- hanem magának az éternek a paralizáló hatására vezetendő vissza; a serumban visszamaradt éternek levegő árammal való eltávolítása után a serumdiasztáz visszanyeri eredeti aktivitását tehát a diasztázhatás kifejtéséhez nem szükséges lipoidok jelenléte. Tojássárgából nyert alkoholos és éteres extrakt a nyáldiasztáz

1/ Palladin und Stanewitsch, Biochem. Zeitschr. 22, 851

D. Minami, Biochem. Zeitschr. 39, 355, 1912. 10.

2/ W. Zaleski, Biochem. Zeitschr. 31, 195. 1911.

3/ W. Zaleski und A. Rosenberg, Biochem. Zeitschr. 33, 1911.



foszfatida tartalmánál fogva különösen alkalmas vízstimulálta, a stimuláló hatás anorganikus sókra nem gátlati objektumnak kínálkozott.  
vezethető vissza.

Kísérleteimhez hántott Victoria borsóból ér-

A felsorolt irodalmi adatokból kitűnik, hogy a léssel és szitálással készült lisztfinomságu anyagot foszfatidáknak az állati enzimekre különösen pedig az használtam. A borsólisztet különböző a foszfatidákat állati diasztáz működésére való hatását és jelentőségét részletesen tanulmányozták, ezzel szemben a növényi extrahált lisztet diasztatikus hatásának a változást.

tására tudtommal nem végeztek vizsgálatokat. Ami ebből

Mielőtt ezen vizsgálatokhoz hozzákezdtém volna, a szempontból a többi növényi enzimeket illeti, Pallas szükségesnek mutatott előbb arról meggyőződni, din és Stanewitsch, továbbá W. Zaleski és A. Rosenberg 3/ foszfatidák kioldásához használt oldószerek hogyan hatnak a borsódiasztázra. E célból 200 cm-es mekre és a katalázra kifejtett hatás tanulmányozásával Erlenneyer lombikokba belemérttem 1-1 g borsólisztet,

Ama kérdés tanulmányozására, hogy a foszfatidák hozzáadtam 1-1 cm toluolt, 50-50 cm 2%-os keményítő-mennyiben vannak befolyással a növényi amilázra, a oldatot, megfelelő mennyiségű organikus oldószert és borsómag csekély zsir s aránylag magas diasztáz és vizet, jól összeráztam, szobahőfokon hagytam állani

1/ Palladin und Stanewitsch, Biochem. Zeitschr. 26, 351  
1910.

2/ W. Zaleski, Biochem. Zeitschr. 31, 195. 1911.

3/ W. Zaleski und A. Rosenberg, Biochem. Zeitschr. 33,  
cm -ének a redukálóképességét 31, 1911. szerint hata-



foszfatida tartalmánál fogva különösen alkalmas vizsgálati objektumnak kínálkozott.

Kísérleteimhez hántott Victoria borsóból őrléssel és szitálással készült lisztfinomságú anyagot használtam. A borsólisztet különböző a foszfatidákat oldó organikus oldószerekkel extraháltam s vizsgáltam az extrahált lisztek diasztatikus hatásának a változását.

XI. táblázat

Mielőtt ezen vizsgálatokhoz hozzákezdttem volna, szükségesnek mutatkozott előbb arról meggyőződni, hogy a foszfatidák kioldásához használt oldószerek hogyan hatnak a borsódiasztázra. E célból 200 cm<sup>3</sup>-es Erlenmeyer lombikokba belemértem 1-1 g borsólisztet, hozzáadtam 1-1 cm<sup>3</sup> toluolt, 50-50 cm<sup>3</sup> 2%-os keményítő-oldatot, megfelelő mennyiségű organikus oldószert és vizet, jól összeráztam, szobahőfokon hagytam állani és a kísérleti idő elteltével dolgozatom első részében ismertetett módon kezeltem s a nyert szűrlet 20-20 cm<sup>3</sup>-ének a redukálóképességét Bertrand szerint hatá-

roztam meg.

A X-XII táblázat adataiból kitűnik, hogy kis liam

### X. táblázat

mennyiség alkohol hatására a borsóamiláz hatóképesse-					
Kísérle-	1 cm <sup>3</sup> me-	5 cm <sup>3</sup> me-	10 cm <sup>3</sup> me-	25 cm <sup>3</sup>	Kontroll
ti idő	tilalkohol	tilalko-	tilalko-	metilalko	
órákban	+ 49 cm <sup>3</sup>	hol + 45	hol + 40	hol + 25	50 cm <sup>3</sup>
	viz	cm <sup>3</sup> viz	cm <sup>3</sup> viz	cm <sup>3</sup> viz	vizzel
	Cu mg	Cu mg	Cu mg	Cu mg	Cu mg
0	6.4	7.0	6.8	6.4	6.4
24	26.2	21.3	21.4	5.7	27.6
48	33.6	31.5	27.0	12.4	35.0

esetleg valami keveset visszatart egy annak a hatása nem igen jöhet számí XI. táblázat

Annak megvizsgálására, hogy a borsólisztnek etil-

Kísérle-1 cm <sup>3</sup> etil 5 cm <sup>3</sup> etil-10 cm <sup>3</sup>				
ti idő	alkohol	alkohol	etilalko-	Kontroll
órákban	+49 cm <sup>3</sup> viz	+45 cm <sup>3</sup> viz	hol +40	50 cm <sup>3</sup>
	Cu mg	Cu mg	cm viz	vizzel
			Cu mg	Cu mg
0	3.30	3.3	3.5	3.2
24	25.2	17.6	15.7	25.4
48	30.8	29.3	22.7	34.6

idő leteltével a lisztből az oldószert vákuumban leszűr-

### XII. táblázat

Kísérleti 50 cm <sup>3</sup> étivel		
idő	telített víz	Kontroll
órákban	50 cm <sup>3</sup> viz	50 cm <sup>3</sup> viz
	Cu mg	Cu mg
0	2.5	2.7
24	19.7	26.8
48	25.7	38.7



A X-XII táblázatok adataiból kitűnik, hogy kis liszt mennyiségű alkohol hatására a borsóamiláz hatóképessége nem szenved lényeges változást s csak magasabb koncentrációnál mutatkozik erősebb paralizáló hatás. Ennek alapján ha ezen oldószerekkel extraháljuk a borsólisztet s ha a kiszáritott extrahált liszt ezen oldószerekből esetleg valami keveset visszatart úgy annak a hatása nem igen jöhet számításba.

Annak megvizsgálására, hogy a borsólisztnek etilalkohollal és éterrel való extrahálása mennyiben vanatok hatással a borsódiasztázra, a következő vizsgálatokat végeztem. 10-10 g borsólisztre 30-30 cm<sup>3</sup> oldószert szobahőfokon különböző ideig hagytam hatni. Az extrahálási idő leteltével a lisztről az oldószert vákuumban leszűrtem, a szűrőn visszamaradt lisztet az oldószerrerrel majd kevés éterrel lemostam s kénsavas vákuumexikátorban kiszáritottam. Az extrahált lisztből 5 g.-ot 50 cm<sup>3</sup> desztillált vízzel elkevertem négy órai állás után száraz

XIII. táblázat

Kontroll

24	48	72	96	
24	48	72	96	
15.9	3.9	2.8	2.6	104.1



redős szűrőn leszűrtem. A metilalkohollal extrahált liszt  
vizes kivonata igen jól, az éterrel és etilalkohollal  
extrahált lisztéké ellenben igen nehezen szűrődött, az  
utóbbiak leszűrése hasonlóan a nativ birsólisztéhez

több órát vett igénybe. A szűrlet 25 cm<sup>3</sup>-éhez hozzáad-  
tam 100 cm<sup>3</sup> 1%-os oldható keményítőt, 1 cm<sup>3</sup> toluolt,  
szobahőfokon hagytam állani a kísérleti idő eltel-  
tével 10-10 cm<sup>3</sup>-es próbák redukáló képességét Bertrand  
szerint meghatároztam.

Az extrahált birsólisztékből nyert vizes kivonatok  
diasztatikus hatásának a meghatározásánál kapott eredmé-  
nyeket a XIII-XV. táblázatokban foglaltam össze. E  
táblázatokban feltüntetett adatok jól összevágó pár-  
huzamos meghatározások középértékei.

XIII. táblázat  
Metilalkohollal extrahált birsóliszt kivonat nem

Kísérleti idő órákban	Extrahálási idő órákban					Kontroll Cu mg
	3	24	48	72	96	
0	2.9	2.6	2.6	2.2	2.7	2.6
48	7.2	2.8	2.4	2.5	2.5	69.3
96	15.9	3.9	2.8	2.8	2.6	104.1

ki lehet mutatni XIV. táblázatellenlétét.

etilalkohollal extrahált borsóliszt

Kísérleti idő órákban	Extrahálási idő órákban	3	24	48	72	96	Kontroll
							Cu mg
0		2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9
48		30.1	29.8	21.1	22.3	22.6	68.9

Közvetlen éterrel azért nem oldható ki a lecithin,

#### XV. táblázat

éterrel extrahált borsóliszt

Kísérleti idő órákban	Extrahálási idő órákban	3	24	48	72	96	Kontroll
							Cu mg
0		12.5	12.4	2.6	2.6	2.4	2.4
48		28.6	26.3	17.5	13.8	11.3	35.0
96		33.3	30.2	25.8	20.1	14.1	50.0

Ezen táblázatokból kiolvasható, hogy a metilalkohollal extrahált viz nem tartalmazna szambavehető 24 óráig extrahált vízből nyert vizes kivonatot nem mennyiségben foszfátidát. Támogatja ezen feltevést az bontja a keményítőt, az etilalkohollal és éterrel extrahált lisztek vizes kivonatában még a 96 óráig extrahált lisztekben oldja ki a legtöbb anyagot a borsólisztból. 5-5 g borsólisztet 50-50 cm<sup>3</sup> oldószerrel



ki lehet mutatni a diasztáz jelenlétét.

E. Schultze vizsgálatai alapján ismeretes, hogy a peritott magvakból étérrel csak igen kevés lecithin oldható ki, a lecithin extrahálása az étérrel zsirtalanított anyagból forró alkohollal történik, az alkohollal kioldott lecithin aztán már oldódik étérben.

Ezek alapján a borsóliszt-diasztáz és a liszt-foszfátida tartalma között olyan összefüggés látszik fennállni, hogy a foszfatidamentes metilalkohollal extrahált/ lisztből nyert vizes extrakt a keményítőt nem bontja el. Közvetlen étérrel azért nem oldható ki a lecithin, mert nem szabad állapotban, hanem nagy valószínűséggel fehérjékhez és szénhidrátokhoz kötve, könnyen elbomló vegyületek alakjában van jelen a növényekben, amelyekből forró alkohol hatására a lecithin lehasítható.

Annak megvizsgálására, hogy a metilalkohollal extrahált borsóliszt-diasztatikus hatása a metilalkoholos etilalkohollal már hidegen is képes a foszfatidák javarészét felszabadítani és kioldani s így a metilalkohollal extrahált viz nem tartalmazna számbavehető mennyiségben foszfatidát. Támogatja ezen feltevést az a kísérleti tapasztalat, hogy a három oldószer közül a metilalkohol oldja ki a legtöbb anyagot a borsólisztből. 5-5 g borsólisztet 50-50 cm<sup>3</sup> oldószerrel oldatott, 1 cm<sup>3</sup> toluolt, jól összeráztam s szobahőfokon

öt napig extraháltam, ha metilalkohol által kioldott száraz anyag mennyiségét 100-nak vesszük, akkor az etilalkoholra 37.1, az éterre pedig 29.8 adódik ki.

Ezek alapján a borsóliszt-diasztáz és a liszt foszfátida tartalma között olyan összefüggés látszik fennállani, hogy a foszfatidamentes /metilalkohollal extrahált/ lisztből nyert vizes extrakt a keményítőt nem bontja el.

Hogy a metilalkohollal való extrahálás a diasztázt nem öli meg, bizonyítja a következő kísérlet.

Annak megvizsgálására, hogy a metilalkohollal extrahált borsóliszt diasztatikus hatása a metilalkoholos

extrakt hozzáadásával reaktiválható-e, 50 g borsólisztnek 150 cm<sup>3</sup> metilalkohollal készült kivonatát /extrahálási idő 5-6 nap/ vízfürdőn bepárologtattam, a maradékhoz desztillált vizet adva tovább főztem, a nyert emulziót 50 cm<sup>3</sup>-re feltöltöttem, hozzáadtam 5 g metilalkohollal extrahált lisztet, 150 cm<sup>3</sup> 1%-os keményítőoldatot, 1 cm<sup>3</sup> toluolt, jól összeráztam s szobahőfokon



hagytam állani, A kísérleti idő elteltével kivettem  
 50-50 cm<sup>3</sup>-t, ezt a már ismertetett módon koaguláltam  
 s a nyert szűrlet 10-10 cm<sup>3</sup>-ének meghatároztam a redu-  
 káló képességét. Kontroll gyanánt olyan próba szolgált,  
 amelyhez 50 cm<sup>3</sup> extrakt helyett 50 cm<sup>3</sup> vizet adtam. A  
 nyert eredményeket az alábbi táblázat tartalmazza.

Kísérleti idő		Nativ borsóliszt				Metilalkohollal extrahált liszt	
órákban		+ 50-50 cm <sup>3</sup> extrakt				+ 50-50 cm <sup>3</sup> viz	
		Cu mg				Cu mg.	
0		20.2	52.1	22.0	21.1	5.9	6.5
48		35.0	113.6	50.2	47.5	11.3	11.9
96	Vizsgálat	78.2	75.6	32.5	26.0	12.6	14.9

Ezen adatok azt bizonyítják, hogy a metilalkohol-  
 solja a nativ borsóliszt diasztázát s hogy képes a  
 al extrahált borsóliszt diasztatikus hatása a metil-  
 lecithin a metilalkohollal extrahált borsóliszt diasz-  
 alkohol által oldott anyagok jelenlétében jelentős mér-  
 tázat reaktiválni. E kísérletekhez használt lecithin-  
 tékben reaktiválódik. Mindenesetre szembetűnő itt, hogy  
 a 96 órás kísérletekben a redukáló képesség kisebb,

mint a 48 órákban. Ez érdekes és különös jelenség ki-  
 Wohlgemuth J. Grundriss der Fermentmethoden pag. 105,  
 1913. Berlin.

kutatására végzett vizsgálatok nem vezettek pozitív eredményhez. Megvizsgáltam a metilalkoholos extrakt hatását a natív borsóliszt diasztázra is s azt találtam, hogy ezt is aktiválja. Kísérletek beállítása a megelőzőhöz hasonló módon történt.

XVII. táblázat

Kísérleti idő órákban	Natív borsóliszt			
	+50 cm <sup>3</sup> extrakt Cu mg	+50 cm <sup>3</sup> viz Cu mg	+50 cm <sup>3</sup> extrakt Cu mg	+50 cm <sup>3</sup> viz Cu mg
0	5.4	58.9	7.4	18.3
48	21.3	154.6	10.5	56.3
96	39.1	105.1	8.7	76.5

Vizsgálatokat végeztem olyan irányban is, hogy tojássárgából előállított lecithin miképen befolyásolja a natív borsóliszt diasztázát s hogy képes-e a lecithin a metilalkohollal extrahált borsóliszt diasztázát reaktiválni. E kísérletekhez használt lecithin-emulsiót Wohlgemuth előírása szerint készítettem, hogy a növényi diasztáz működése szempontjából a fosz-

1/

Wohlgemuth J. Grundriss der Fermentmethoden pag. 105, 1913. Berlin.



50 cm<sup>3</sup> lecithin-emulsió 1 g tojáslecithint tartalmazott  
 fatidák nem tekinthetők olyan közönséges anyagoknak,  
 A kísérletek beállítása ugyanugy történt, amint azt az  
 mint azt egyes kutatók az állati diasztázra nézve meg-  
 előzőkben ismertettem, természetesen azzal a külön-  
 állapították.

séggel, hogy 50 cm<sup>3</sup> metilalkoholos extrakt helyett 50  
 cm<sup>3</sup> Dolgozatomat részben a m.kir. Ferencz-József Tu-  
 cm lecithin emulsiót vettem.

dományegyetem vegytani intézetében, részben a m.kir.

### XVIII. táblázat

Mezőgazdasági Növénybiokémiai Állomás laboratóriumában

Kísérleti. nativ borsóliszt metilalkohollal extr.  
 idő 12 órában lecithin-lecithin lecithin- lecithin nél  
 Dr. Bodnar János egyetemenkénti halálát közölte

Cu mg

Cu mg

kifejezni. ki mindvégig nagy figyelemmel kísérte munká-

	0	5.4	6.5	7.4	7.0
mat 48 kinek	21.3	28.3	31.5	38.0	41.0
96	39.1	52.3	8.7	10.8	

ak ennek sikeres befejezéséhez.

E táblázat adataiból kiolvasható, hogy a tojás-  
 sárgájából nyert lecithin a nativ borsóliszt diasztá-  
 zát paralizálja s hogy a metilalkohollal extrahált  
 borsóliszt diasztatikus hatását nem reaktíválja. Vizs-  
 gálataimból végeredményben arra lehet következtetni,  
 hogy a növényi diasztáz működése szempontjából a fosz-

fatidák nem tekinthetők olyan közönbös anyagoknak, mint azt egyes kutatók az állati diasztázra nézve megállapították.

Dolgozatomat részben a m.kir. Ferencz-József Tudományegyetem vegytani intézetében, részben a m.kir. Mezőgazdasági Növénybiokémiai Állomás laboratóriumában készítettem. Befejezése alkalmával nem mulaszthatom el Dr.Bodnár János egyetemi tanár úrnak hálás köszönetemet kifejezni, ki mindvégig nagy figyelemmel kísérte munkámat s kinek értékes tanácsai nagy mértékben hozzájárultak ennek sikeres befejezéséhez.

Budapest, 1923.év június havában

